



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

**Ocena rozprawy doktorskiej lek Klaudii Berk pt. „ Ocena
wpływu kannabidiolu (CBD) na zawartość i metabolizm
sfingolipidów w podskórnej i trzewnej tkance tłuszczowej u
szczurów z insulinoopornością indukowaną dietą
bogatołuszczową”**

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska została wykonana w Zakładzie Fizjologii Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, promotorem pracy był Pan prof. dr hab. Adrian Chabowski, promotorem pomocniczym Pani dr med. Karolina Konstantynowicz-Nowicka.

Do rozprawy doktorskiej zostały włączone dwie prace (oryginalna i przeglądowa) opublikowane w prestiżowych czasopismach, Int. Journal of Molecular Sciences (IF= 6,208) oraz Journal of Clinical Medicine (IF+4,964).

Rozprawa doktorska podzielona została klasycznie i przejrzysto na rozdziały: wstęp, cele pracy, materiały i metody, wyniki, wnioski, streszczenia oraz włączone do dysertacji prace oryginalne.

Autorka podjęła się w swojej pracy zbadania powiązania pomiędzy otyłością oraz z wiążaną z nią insulinoopornością z nadmiernej podaży kwasów tłuszczowych w diecie a kannabidiolem wzmagającym insulinowrażliwość tkanek.

Wydział Lekarski

Katedra Fizjologii

PL 31-531 Kraków

ul. Grzegórzecka 16

tel. +48(12) 421 10 06

+48(12) 619 96 30

fax +48(12) 422 20 14

fizjologia@cm-uj.krakow.pl

Konieczność opracowania skutecznych metod leczenia otyłości spowodowała rozwój badań nad organicznymi związkami chemicznymi z grupy fitokannabinoidów z konopii siewnej. Dotychczasowe badania sugerują dobroczynny wpływ tej substancji polegający na zmniejszeniu insulinooporności w przebiegu chorób metabolicznych

Szczegółowymi celami przeprowadzonych badań była:

1. Ocena wpływu podaży kannabidiolu na akumulację wybranych frakcji sfingolipidowych w depozytach tkanki tłuszczowej podskórnej i trzewnej u szczurów karmionych dietą bogatotłuszczową.
2. Ocena wpływu podaży kannabidiolu na zmiany ekspresji białek enzymatycznych zaangażowanych w szlak syntezy *de novo* ceramidu, białek wspólnych dla szlaku ratunkowego oraz syntezy *de novo* ceramidu oraz białek enzymatycznych ze szlaku katabolicznego ceramidu w o obu depozytach tkanki tłuszczowej.
3. Ocena zmiany stopnia ekspresji białek całkowitych i ich form fosforylowanych z insulinowego szlaku przekąźnictwa sygnału pod wpływem kannabidiolu w depozytach tkanki tłuszczowej u szczurów karmionych dietą bogatotłuszczową.

Badania zostały przeprowadzone na samcach szczurów Wistar o początkowej masie 70-100 g po uzyskaniu zgody Lokalnej Komisji Etycznej. Po tygodniowej aklimatyzacji zwierzęta podzielono losowo na 4 grupy eksperymentalne:

- kontrolną karmioną standardową paszą dla gryzoni,
- badaną z insulinoopornością indukowaną dietą bogatotłuszczową przez 7 tygodni,
- kontrolną z dootrzewnowymi iniekcjami kannabidiolu,

- Badaną z insulinoopornością, karmioną dietą bogatotłuszczową z dootrzewnowymi iniekcjami kannabidiolu.

Po 7 tygodniach chowu zwierzęta usypiano i pobierano próbki poskórnej i trzewnej tkanki tłuszczowej do badań:

- tkankowego stężenia sfinganiny, ceramidu, sfingozyny, sfingozyno-1-fosforanu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC),
- całkowitej ekspresji enzymów sfingolipidowego szlaku syntezy *de novo* metodą Western Blot,
- całkowitej ekspresji enzymów sfingolipidowego szlaku katabolicznego: kinazy 1 i 2 sfingozyny, kwaśnej i obojętnej ceramidazy metodą Western Blot,
- całkowitej ekspresji enzymów sfingolipidowego szlaku syntezy *de novo* i szlaku ratunkowego metodą Western Blot,
- całkowitej ekspresji białek: kinazy białkowej B i kinazy glikogenu 3beta metodą Western Blot.

Analiza statystyczna została przeprowadzona z użyciem testu Shapiro-Wilka oraz testu Bartletta. Różnice statystyczne pomiędzy badanymi grupami analizowano za pomocą two-way ANOVA, a następnie testu t-Studenta przy użyciu GraphPad Prism, za poziom istotności statystycznej uznano $p < 0,05$.

W wyniku przeprowadzonych badań wykazano, iż:

- Podaż kannabidiolu zmniejsza zawartość sfinganiny i ceramidu w podskórnej i trzewnej tkance tłuszczowej u szczurów z insulinoopornością indukowaną dietą bogatotłuszczową,

- Stosowanie kannabidiolu w szczurzym modelu insulinooporności zmniejsza ekspresję białek szlaku syntezy *de novo* w trzewnej i podskórnej tkance tłuszczowej przy jednoczesnym zróżnicowanym wpływie na pozostałe szlaki metaboliczne sfingolipidów. Wspólnym jednak efektem było obniżenie zawartości ceramidu w obu typach tkanki tłuszczowej.
- Zastosowanie kannabidiolu zwiększyło insulinowrażliwość adipocytów trzewnej tkanki tłuszczowej u szczurów z insulinoopornością. Efekt ten był silniejszy w trzewnej tkance tłuszczowej w porównaniu z tkanką tłuszczową podskórną.


Wyniki badań przeprowadzonych przez Doktorantkę dostarczyły cennych informacji na temat mechanizmów walki z insulinoopornością w przebiegu otyłości indukowanej dietą bogatotłuszczową. Wykazanie, iż kannabidiol ponownie uwrażliwia adipocyty trzewnej tkanki tłuszczowej na insulinę może plasować go w szeregu potencjalnych kandydatów wykorzystywanych w leczeniu zespołu metabolicznego.

Kandydatka w swej pracy wykazała się umiejętnością starannego zaplanowania badań, adekwatnego doboru metod badawczych oraz umiejętnością wyciągania i dyskusowania wniosków, co zaowocowało publikacjami w prestiżowych czasopismach naukowych. Lek. Klaudia Berk w dotychczasowej karierze była Kierownikiem dwóch projektów naukowych oraz wykonawcą w kolejnych dwóch badaniach. Ponadto odbyła trzy staże zagraniczne w ośrodkach naukowych w Niemczech, Włoszech oraz Portugalii. Kandydatka była również w przeszłości nagradzana za osiągnięcia naukowe m.in. Stypendium Ministra Zdrowia oraz Rektora UM w Białymstoku. Dotychczasowa praca naukowa zaowocowała 15 pracami oraz 14 streszczeniami zjazdowymi o łącznym IF= 60,929.

Biorąc pod uwagę doskonały warsztat naukowy Doktorantki wraz z osiągniętymi wynikami stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca doktorska spełnia wszystkie warunki ustawowe stawiane pracom doktorskim i wnoszę do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. Klaudii Katarzyny Berk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kraków, 04.10.2023

Prof. dr hab. med. Agata Ptak-Belowska

Prodziekan
Wydziału Lekarskiego UJ CM
ds. anglojęzycznych warunków studiów

prof. dr hab. med. Agata Ptak-Belowska